

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ  
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

# **ПРИРОДООХОРОННІ БІОТЕХНОЛОГІЇ ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ**

*Рекомендовано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського  
як навчальний посібник для студентів,  
які навчаються за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія»,  
освітньою програмою «Біотехнології»*

Київ  
КПІ ім. Ігоря Сікорського  
2019

Природоохоронні біотехнології: Лабораторний практикум [Електронний ресурс] : навч. посіб. для студ. спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія», освітньої програми «Біотехнології» / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: М. Ю. Козар, О.Я. Боровик – Електронні текстові дані (1 файл: 0,2 Мбайт). – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2019. – 55с.

*Гриф надано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського (протокол № 6 від 31.01.2020 р.) за поданням Вченої ради Факультету біотехнології і біотехніки (протокол №4 від 25.11.2019 р.)*

Електронне мережеве навчальне видання

## ПРИРОДООХОРОННІ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Укладачі: *Козар Марина Юріївна, канд. техн. наук,  
Боровик Оксана Ярославівна*

Відповідальний

редактор *Щурська К.О., к.т.н., доц.*

Рецензент *Шибецький В.Ю., к.т.н., доц.*

Лабораторні роботи, представлені в практикумі, призначені для ознайомлення студентів з основами технологій захисту навколишнього природного середовища, що використовуються у світі та Україні, зокрема. В лабораторному практикумі наведено теоретичні матеріали та типові методики для проведення гідробіологічного аналізу активного мулу, визначення основних показників якості компосту, види біоіндикації та методів біотестування.

Лабораторний практикум «природоохоронні біотехнології» розроблено для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

© КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2019

## Зміст

Вступ.....	4
Лабораторна робота №1	
Гідробіологічний аналіз біоценозу активного мулу.....	5
Лабораторна робота №2	
Переробка органічних відходів за допомогою вермикультури.....	11
Лабораторна робота №3	
Визначення сполук азоту в компості.....	17
Лабораторна робота №4	
Визначення сполук фосфору в компості.....	20
Лабораторна робота №5	
Аналіз гумінових речовин в компості.....	27
Лабораторна робота №6	
Біотестування залишкової токсичності рослин та аналіз компосту на загальну токсичність за допомогою насіння редису .....	33
Техніка безпеки та охорона праці при роботі в лабораторії.....	39

## Вступ

Навчальний посібник «Природоохоронні біотехнології: лабораторний практикум» лежить в основі підготовки студентів-біотехнологів і допомагає засвоювати новітні біотехнологічні процеси, елементи наукових досліджень у різних галузях промисловості для мінімізування негативного впливу на природне навколишнє середовище.

Даний курс базується на дисциплінах, що викладаються в циклах фундаментальних та професійно-орієнтованих дисциплін, таких як: "Теоретичні основи біотехнології», «Анатомія та фізіологія рослин», «Загальна мікробіологія та вірусологія» та інших.

Метою навчального посібника є формування у студентів здатностей до аналізу знань з біотехнологічних процесів в різних галузях промисловості. Під час виконання лабораторних робіт студент набуває навички роботи з біологічними об'єктами, проведення біотехнологічних досліджень. Студенти повинні навчитись проводити хімічний та біохімічний експерименти за заданою інструкцією та відповідним завданням, проводити аналітичний експеримент, працювати з лабораторним обладнанням, реактивами, приладами тощо.

Навчальний посібник містить інформацію, щодо техніки безпеки при роботі в лабораторіях, методик поставки експерименту, отримання корисних продуктів, методів визначення якості отриманих продуктів та перевірки токсичності.

## Лабораторна робота №1

### Гідробіологічний аналіз біоценозу активного мулу

**Мета:** Провести біологічний аналіз активного мулу та біоплівки

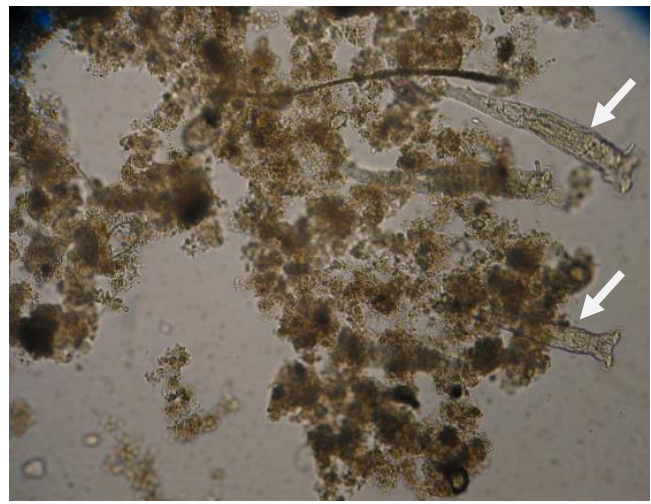
#### Теоретичні відомості

Для видалення із стічних вод органічних речовин використовують споруди біологічного очищення: аеротенки, біофільтри, анаеробні біореактори. Постійні спостереження за ходом біологічного очищення води показали, що склад активного мулу та біоплівки свідчить про якість роботи очисних споруд. Аеротенк – резервуар, в якому стічна вода та активний мул насичуються повітрям і перемішуються, внаслідок чого відбувається очищення стічної води.

Активний мул – компактні пластівці, утворені зооглейними скупченнями бактерій, найпростіших, водних грибів, дріжджів і більш високоорганізованих представників фауни: коловерток, черв'яків, личинок комах, які розвиваються в аеробних умовах на частинках органічних забруднень (рис. 1). Головна роль у переробці органічних сполук належить бактеріям. Найпростіші споживають бактерій та тонкодисперсні частинки, чим сприяють освітленню рідини. Інші представники біоценозу також беруть участь в освітленні рідини [1].

Для нормальної життєдіяльності мікроорганізмів у аеротенк потрібно безперервно подавати кисень повітря. Активний мул являє собою біоценоз мікроорганізмів-деструкторів і найпростіших, здатних сорбувати на своїй поверхні й окиснювати в присутності кисню органічні речовини стічної води. Для активного мулу характерна висока активна поверхня, що досягає 100 м<sup>2</sup> на 1 г сухої речовини мулу.

Домінуюча роль у активному мулі належить різноманітним групам бактерій, здатних не тільки вилучати із води розчинені і завислі частинки, а й самоорганізовуватись у колонії – пластівці, що можна відокремити від води відстоюванням. Бактерії в умовах аеротенків у результаті метаболізму органічних речовин утворюють зооглейні скупчення різноманітної форми і консистенції, зазвичай це компактна або рихла маса.



*а* – інфузорії

*б* – коловертки

**Рисунок 1. Активний мул (x200) [1]**

У спорудах аеробного очищення господарсько-побутових стічних вод найчастіше зустрічаються представники таких родів: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Bacterium*, *Flavobacterium* та ін. Часто в мулах спостерігають зооглейні скупчення бактерій *Zoogloea ramigera*.

У задовільно працюючому активному мулі присутні:

- представники саркодових: голі амеби, черепашкові *Arcella*, *Centropyxis*;
- рухливі безбарвні дрібні джгутикові: *Flagellata*, *Oicomonas*, *Bodo*;
- різноманітні війчасті інфузорії: надзвичайно активні *Aspidisca*, *Euplotes*, *Oxytricha*, *Stylonichia pustulata*; більш пасивні *Paramecium caudatum* (інфузорія тифелька), *Cyclidium*, *Colpodasterei*; прикріплені до поверхні мулу за допомогою стебелець (одиначних або гіллястих) дзвіночки сувійок *Vorticella*, *Carchesium*, *Opercularia*, *Epistylis*;
- смоктальні хижі інфузорії: *Tokophrya*, *Acineta*, *Podophrya*;
- мікроскопічні тварини – коловертки: *Philodina roseola*, *Cathypna luna*, *Callidina vorax*, *Bdelloidea*;
- черви: круглі *Nematoda*; малощетинкові *Aelosoma*.

Найголовнішою їжею війчастих інфузорій слугують бактерії. Так, *Carchesium* за 1 годину пропускає крізь свій організм близько 30000 бактерій, перетравлює і засвоює поживні речовини, які містяться в клітинах бактерій.

Коловертки харчуються бактеріями, органічним детритом, різноманітними найпростішими. Вони є аеробами і надзвичайно чутливі до нестачі кисню [1].

Показником погіршення мулу є присутність нитчастих форм бактерій, зникнення коловерток, сувійок і поява дрібних амеб. Розвиток у активному мулі нитчастих бактерій спричинює погане осадження мулу при відстоюванні та утворення стійкої піни [3,4].

Отже, знання якісного і кількісного складу мікроорганізмів, співвідношення різних груп в активному мулі необхідне для регулювання технологічного режиму роботи споруд біологічного очищення стічних вод з метою створення оптимальних умов для розвитку мікроорганізмів.

Якість мулу залежить від співвідношення між масою органічних забруднюючих речовин (за показником ХСК чи БСК), які містяться в стічній воді, і масою активного мулу (за сухою або беззольною речовиною) в одиницю часу. Цей показник одержав назву навантаження за органічною речовиною на мул.

Як правило, 1 г мулу (за беззольною речовиною) зберігає свою нормальну активність за добового навантаження на нього 150–500 мг БСК<sub>повн</sub>. При більших навантаженнях – понад 500 мг/(г·добу), аеротенк є високонавантаженим і працює на неповне очищення, а активний мул варто регенерувати. За менших навантажень – 65–150 мг БСК<sub>повн</sub> на 1 г беззольної речовини мулу за добу, має місце так звана «продовжена аерація», за якої відбувається самоокиснення клітинної речовини активного мулу.

Масу мулу в аеротенку виражають через його питомий вміст в муловій суміші (вперерахунку на г сухої речовини мулу) в 1 дм<sup>3</sup> рідини. Концентрацію активного мулу, яку підтримують в аеротенку, називають «дозою активного мулу»[1,2].

Біоплівка утворюється в процесі обростання поверхонь або спеціального інертного завантаження споруд біологічного очищення. На відміну від активного мулу біоценоз біоплівки має значно більшу різноманітність форм гідробіонтів. При постійному очищенні води в біофільтрі змінюється біоценоз біоплівки та спостерігається зміна зон сапробності.

В верхньому горизонті біофільтра створюються умови для полісапробної або альфамезосапробної зон. В біоплівці переважають гриби, різноманітні бактерії, особливо багато нитчастих. З найпростіших мають перевагу безбарвні джгутикові (роди *Oicomonas* та *Bodo*) та вільноплаваючі інфузорії виду рівновійчастих, особливо *Paramecium*, з кругловійчастих інфузорій тільки *Opercularia*. В біофільтрі іноді спостерігаються представники зелених водоростей та джгутикових: *Selensastrum* та *Peranema*. З червів в незначній кількості зустрічаються коловертки та круглі черви [1].

При проходженні рідини через біофільтр в біоплівці зменшується кількість бактерій, грибів та безбарвних джгутикових.

Збільшується кількість вільноплаваючих крупних черевовійчастих інфузорій, з'являються різноманітні прикріплені інфузорії, збільшується кількість коловерток та круглих червів. В біоплівці переважають форми, притаманні - мезосапробній зоні.

#### **Матеріали та обладнання:**

- Мікроскоп біологічний.
- Предмітні та покривні скельця.
- Піпетки.
- Пробірки.

#### **Хід роботи**

##### **Відбирання проб для мікроскопування:**

а) активний мул.

З аеротенка відбирається мулова рідина в пробірку в кількості 7-10 см<sup>3</sup>. Мул відстоюванням відділяється від рідини (2-3 хвилини) і потім піпеткою з широким отвором відбирається для мікроскопування.

б) біоплівка.

З різних горизонтів біофільтра відбирається засипний матеріал (шлак, щебінь, керамзит, волокно та ін.), вміщується в фарфорову чашку і заливається невеликою кількістю дистильованої води. Для мікроскопування біоплівка відбирається піпеткою з широким отвором.



## **Послідовність опису активного мулу і біоплівки.**

1. Швидкість осідання мулу.
2. Колір мулу (бурий, чорний, білуватий тощо).
3. Вода над мулом (прозора, каламутна, забарвлена).

Подальший опис ведуть при мікроскопуванні. Необхідно продивити не менш ніж 10 полів зору.

4. Щільність та розмір пластівця (щільний, роздріблений, крупний, дрібний).
5. Присутність сторонніх вкраплень.
6. Склад гідро біонтів (визначається за [3]).
7. Кількість гідробіонтів за п'ятибальною системою (див. нижче).
8. Наявність грибів та нитчастих бактерій.
9. Наявність вільноплаваючих бактерій (багато, мало).
10. Форми бактерій, які переважають (дрібні палички, крупні палички, спірили і тощо).

Пункти 4-7 описуються при малому збільшенні (об'єктив 4, 10), а 8 та 9 – при великому збільшенні (об'єктив 40).

Кількість організмів оцінюється за п'ятибальною системою хрестиками.

Один – поодинокі,

два – мало,

три – чимало,

чотири – багато,

п'ять – масовий розвиток.

Відмічається також стан організмів, їхня рухливість, робота війчастого апарату.

З отриманих результатів роблять висновки чи задовільний стан роботи аеротенків.

## **Контрольні запитання та завдання:**

1. Назвати переважаючих представників гідро біонтів активного мулу. Дати кількісну оцінку розвитку гідробіонтів за п'ятибальною системою.
2. Зробити висновок про стан активного мулу і біоплівки.

3. Як можна охарактеризувати активний мул в різних умовах?
4. Які умови необхідно підтримувати в аеротенку для задовільної роботи споруди?
5. Які види називають індикаторними, для яких умов вони характерні?

### **Перелік використаної літератури:**

- 1- Обладнання та проектування в біоенергетиці та водоочищенні і управління безпекою праці : підручник для студ. спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія», спеціалізації «Екологічна біотехнологія та біоенергетика» / Л.А. Саблій, О.М. Бунчак, В.С. Жукова, С.В. Кононцев; Під ред. Л. А. Саблій. – 2-е вид., перероб. і доп.; КПІ ім. Ігоря Сікорського. – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2017. – 376 с.
- 2- Запольський А.К., Мєшкова-Клименко Н.А., Астрелін І.М., Брик М.Т., Гвоздяк П.І., Князькова Т.В. Фізико-хімічні основи технології очищення стічних вод. - К.: «Лібра».-2000. -552с.
- 3- Кутикова Л.А. (отв. ред.) Фауна аеротенков (Атлас). Л.: «Наука». -1984. -264с.
- 4- Саблій Л.А. Фізико-хімічне та біологічне очищення високо-концентрованих стічних вод: монографія. Рівне : НУВГП, 2013. 292 с.

## **Лабораторна робота №2**

### **Переробка органічних відходів за допомогою вермикультури.**

**Мета:** опрацювати методику переробки органічних відходів з одночасним отриманням компосту за допомогою вермикультури.

#### **Теоретичні відомості**

Отримання біогумусу ґрунтується на здатності дощових черв'яків використовувати органічні рештки, трансформувати їх у кишечнику і виділяти у вигляді копролітів. Дощові черв'яки – найбільші представники безхребетних, які входять до складу ґрунтової макрофауни. Їх частка становить не менш як половини всієї біомаси ґрунту. Значення черв'яків у екосистемі ґрунту полягає у редукції об'єму органіки, яка поступає у його верхній шар, її мінералізації, концентруванні мінеральних речовин у копролітах, що робить їх більш доступними для рослин [1].

Технологія вермикомпостування заснована на харчовій активності дощових черв'яків. Захоплюючи і змішуючи в процесі харчування органічні залишки з мінеральними частинками ґрунту, переварюючи їх і збагачуючи власною мікрофлорою, ферментами, біологічно активними речовинами, дощові черв'яки виробляють копроліти (копрос - випорожнення, літос - камінь) з високим вмістом гумусу, мікро- і макроелементів. У кишечнику дощових черв'яків відбуваються часткова мінералізація і гуміфікація органічного матеріалу, з'єднання аміаку з лігніном, зміна мінералогічного і гранулометричного складу, формування гумусових речовин і модифікація мікробоценозів субстратів, які конвертуються.

Вермикультура трансформує відходи в високоефективне біодобриво (біогумус) в формі агрегатів розміром 1- 5-10 мм, з хорошою структурою і водостійкістю структурних агрегатів, з підвищеним вмістом гумусу (14-20%) обмінного калію, рухомого фосфору, кальцію, з пролонгованою дією при внесенні в ґрунт. В процесі вермикомпостування спостерігається зміна гранулометричного складу субстрату. Зменшується частка пилюватої фракції (менше 0,25 мм), збільшується маса агрономічно-цінних агрегатів розміром 0,25-7 мм. При цьому максимальної маси досягає фракція 2 мм, до складу якої входять копроліти дощових черв'яків. Ступінь збільшення цієї фракції залежить від вмісту і складу

органічної частини вихідного субстрату. При цьому збільшується водостійкість агрегатів, сума яких також підвищується зі зростанням частини, яка конвертується в складі субстрату [ 2,3,4].

Загалом технологію вермикомпостування можна умовно розділити на три етапи.

Перший етап вермикомпостування полягає в приготуванні органомінеральної компостної суміші. Органічні відходи і наповнювач-структуроутворювач змішують і зволожують до значення вологості 70-80% ( на дотик як мокре полотенце). Відповідно якісний, готовий до поселення черв'яків, субстрат є вологим, однорідним за кольором, температура якого складає 19-22 °С, рН близько 7, відносна вологість 80 %. Для зменшення тривалості біоконверсії відходів обов'язковою умовою є їхнє попереднє подрібнення.

На другому етапі отримані орґано-мінеральні компостні суміші заселяють культурою дощових черв'яків. З великої кількості існуючих видів дощових черв'яків найбільш придатною вважається лінія дощового черв'яка *Eisenia foetida*, що характеризується високою швидкістю зростання, плодючістю (в сприятливих умовах потомство становить 1500 особин на рік), тривалістю життя до 16 років. В умовах вермикультури 1 черв'як відкладає до 70 яєць на рік, з кожного виводиться від 2 до 20 нащадків. Щільність заселення черв'яків досягає в середньому 120 особин /м<sup>2</sup>, а біомаса – 50 г/м<sup>2</sup>(за маси тіла одного черв'яка 0,5-1,5 г). Тривалість компостування - 1-3 місяці, в залежності від виду органічних відходів.

На третьому етапі дощові черв'яки відокремлюються від субстрату, вермикомпост висушується та використовується при цьому біомаса черв'яків теж використовується як цінна кормова добавка.

Під час риття ходів за добу черв'як пропускає через себе кількість ґрунту (відходів), що дорівнює його масі. При активній діяльності в році близько 200 днів загальна кількість переробленої маси складе 400-600 т / га. При переробці маси ґрунту черв'яки не тільки інтенсифікують процеси розкладання органіки, а й вибірково впливають на мікрофлору. Виділені ними антибіотики негативно впливають на патогенну мікрофлору [1,4].

Органічна маса, в якій мешкають дощові черв'яки, втрачає неприємний запах розкладання відходів, знезаражується, стає гранульованою і грудкуватою, що дуже важливо для обробки рослин, і набуває приємний запах землі.

Метод переробки органічних відходів за допомогою черв'яків актуальний тим, що в ньому не застосовуються хімічні реагенти, відповідно не постає необхідність в додаткових технологічних процесах і переробці побічних продуктів. Крім того, в процесі переробки відходів дощовими черв'яків виключено забруднення навколишнього середовища.

Фундаментальні розробки по вермикомпостуванню органічних відходів і успішний практичний досвід дають змогу сформулювати загальні методичні підходи та вимоги до організації вермикомпостування в промислових масштабах. У загальному вигляді ці вимоги зводяться до наступного: успішне використання дощових черв'яків у процесах переробки органічних відходів у промислових масштабах можливе при умові створення для них оптимальних умов, які відповідають біологічним потребам виду. До основних факторів, що визначають не просто виживання черв'яків, а й стимулюють їх життєдіяльність, відносяться: якість вихідного субстрату, температура, наявність кисню, вологість субстрату.

Актуальними є проведення досліджень з переробки органічних відходів за допомогою вермикультури з метою отримання необхідної інформації по підборі технологій, визначення параметрів ведення процесу, оптимізації кількісного виходу вермикомпосту і досягнення його заданої якості.

З досвіду фахівців біотехнології відомо, що органічна речовина, яка підлягає вермикультивуванню, повинна містити легкозасвоювані вуглеводи та клітковину у кількості не менше 20 – 25%. Опале листя містить значну кількість біополімерів, зокрема вуглеводів (клітковина, легкозброджувані вуглеводи, крохмаль та інші біологічно активні речовини), які можуть слугувати поживним середовищем. Одним із напрямків роботи щодо утилізації опалого листя є використання його як складової частини поживного середовища для вермикультивування.

Вермикультура - це популяція земляних черв'яків (*vermis* - лат. - черв'як) разом із супутніми мікроорганізмами, нижчими грибами, найпростішими,

комахами у органічному субстраті, який служить їм середовищем перебування та їжі. У вермикультурі можна використати аборигенні види черв'яків, які поселяються у компості при компостуванні на відкритому ґрунті або селекційовані штами та гібриди черв'яків. В основному, використовують види *Eisenia fetida*, *Lumbricus rubellus*, але і *Lumbricus terrestris* та інші види можна застосувати для мінералізації органічних решток після їх закопування у ґрунт [1].

Під назвою земляні, або дощові черв'яки, розуміють різні види, що відносяться до сімейства *Lumbricidae* (*Lumbricus*, *Eisenia*, *Allolobophora*), класу малощетинкових (*Oligochaeta*), підтипу пояскових (*Clitellata*), типу кільчастих (*Annelida*).

Вид *Eisenia foetida* черви одержали назву на честь шведського вченого Густава Ейсена. Найчастіше вони зустрічаються у гнойових купках, гнилій соломі, парниках (часто до 1 тис. особин/м<sup>2</sup> і більше). Розміри тіла черв'яка 35-130 x 3-5 мм, його колір червоний, темно червоний, коричнево-червоний. Спина темніша, черевна сторона світліша. Селекціоновано також однотонно забарвлені форми і штами, які мають кільця, що чергуються – червоно-коричневі на дорзальній частині і з ділянками без звичного пігменту.

Особини цього виду більш рухливі, швидше досягають статевої зрілості ніж *Lumbricus terrestris*, раніше вилуплюються з коконів. Будучи близьким родичем цього виду, він має подібний спосіб життя і також харчується у природі частково деградованими рештками рослин та тварин. Цей вид веде епігеїчний спосіб життя, поїдає детрит і дуже малу кількість ґрунту. Відмінності полягають у розмірах тіла, його кольорі, відношенню до температурних умов, термінах розвитку й інтенсивності розмноження, стійкості до несприятливих факторів середовища, довжині і глибині ходів, які утворюють черв'яки. Максимальна тривалість життя цього виду – 4-5 років, а у природі найчастіше живе 1-2 роки. Черв'яки майже не хворіють. Мікроорганізми знищуються у їхньому травному тракті.

*E. foetida* живе при аеробних умовах, вимагає вологого навколишнього середовища, високої вологості їжі. Оптимальне значення рН місця проживання 7-7,5 (крайні значення рН 6-8,2). Оптимальна температура навколишнього середовища: для харчування 20-25° С, для розмноження 12-17° С. При

температурі вище 35° С вони гинуть і вище 32° С не харчуються. Їжа повинна пройти попередню ферментацію розкладання і мати приблизно 70-80% вологості. У кишечнику кільчастих червів живуть бактерії, які розкладають целюлозу, в їх екскрементах знаходяться антибіотики [1,4].

### **Матеріали та обладнання:**

Контейнер для проведення компостування, ніж, лопатки, ґрунт, вермикультура, органічний субстрат.

### **Хід роботи**

Кормом для черв'яків є різні органічні відходи з високим вмістом целюлози, які пройшли процес ферментації. Існують такі вимоги до вихідного органічного субстрату (відходів) для одержання якісного корму для черв'яків: вологість 70–80 %, рН 6,8–7,2, достатня кількість целюлози (20–25 %), вміст оксидів заліза не більше 10 %, відсутність твердих частин — металевих, дерев'яних, камінців, скла тощо. Для проведення ферментації 50 г органічних відходів розміщують в ґрунті та засипають шаром землі зверху. В протокол записують масу землі, В умовах доступу води і кисню та під впливом мікроорганізмів-аеробів, які є на субстраті (грибів, актиноміцетів, бактерій), органічні відходи розкладаються. У результаті гідролітичного розщеплення високомолекулярних сполук (білків, жирів, вуглеводів) утворюються проміжні й кінцеві низькомолекулярні продукти, які споживаються черв'яками. Процес ферментації субстрату проходить у двох температурних режимах. Після закладки субстрату температура всередині підвищується до термофільних величин (50–60 °С), а потім зменшується до мезофільних значень (25–35 °С) і через декілька місяців знижується до температури довкілля. Стабільність цього показника свідчить про закінчення ферментації і придатності субстрату для годівлі черв'яків. Біотермічні процеси, які відбуваються при температурі 50–60 °С, згубно діють на патогенну мікрофлору, яйця і личинки гельмінтів, насіння бур'янів, а сечовина і гіпурова кислота, які містяться в гноєві, розкладаються до аміаку, двоокису вуглецю і води. Надмірну кислотність нейтралізують шляхом додавання необхідної кількості вапна, крейди, дефекату, сланцевої золи, мергелю й інших речовин, які є

одночасно й мінеральними домішками. Високу лужність усувають надмірним поливом. Для забезпечення достатньої аерації субстрату його ретельно перемішують [3].

В кожен секцію заселяють приблизно 10 особин однакового розміру ретельно зволожуючи ґрунт, варто пам'ятати, що не можна допускати пересихання тіла черв'яків, адже це може призвести до загибелі особин.

Підтримувати вологість необхідно в межах 70-80%, а вносити органічний субстрат необхідно не рідше ніж один раз на два тижні.

Кожна бригада підбирає своє співвідношення різних видів органічних відходів для дослідження та вносить до лабораторного журналу дату, вид та масу субстрату.

По завершенню вермикомпостування необхідно ретельно перемішати отриманий компост та ґрунт і провести його аналіз. Методика аналізу на основні поживні компоненти приведено у наступних лабораторних роботах.

### **Перелік використаної літератури:**

1. Знешкодження та утилізація відходів в агросфері: навч. посібник/ В.К. Пузік, Р.В. Рожков, Т.А. Долгова та ін. – Х: ХНАУ, 2014. – 220 с.
2. Торгоня В.С. Дослідження й обґрунтування прийнятих параметрів біотехнологічного процесу вермикультивування та обладнання для його реалізації / В.С. Торгоня // Науковий вісник НУБіП України :зб. наук. праць. – К. :Вид-во НУБіП України. – 2009. – Вип. 134, ч. 1. – С. 145- 152.
3. Буцяк В.В. Використання біогумусу для підвищення родючості ґрунту і одержання екологічнобезпечної продукції / В.В. Буцяк // Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. Гжицького :зб. наук. праць. – Львів :Вид-во ЛНУВМБТ ім. Гжицького. – 2012. – Т. 14, № 2 (52). – Ч. 3. – С. 33-36.
4. Сендецький В. М. Переробка органічних відходів у біогумус методом вермикультивування / В. М. Сендецький. // Збірник наукових праць ННЦ “Інститут землеробства УААН”. – 2009. – №1. – С. 50–55.



## Лабораторна робота №3

### Визначення вмісту сполук азоту у компості

**Мета роботи:** навчитись визначати вміст амонійного та нітратного азоту у компості.

#### Теоретичні відомості

Безпосередньо доступними для живлення рослин є мінеральні сполуки азоту - аміачні солі та нітрати. Солей азотистої кислоти - нітритів у ґрунті мало та їхня роль у харчуванні рослин недостатньо виявлена. За деякими даними, нітрити шкідливі для рослин [3].

Аміачні солі та нітрати розчиняються у воді і можуть бути вилучені з ґрунту водними витяжками. Аміачний нітроген визначають в сольовій витяжці, при цьому у розчин переходить не водорозчинний але й зв'язаний амоній.

Співвідношення амонійного і нітратного азоту в ґрунті досить динамічне і залежить від мікробіологічної активності. Тому судити про забезпеченість ґрунтів азотом по одиничному визначенню не коректно і лише повторні визначення протягом вегетаційного періоду дають уявлення про азотний режим ґрунту [3].

Амонійний азот екстрагують з ґрунту 1 н розчином KCl. У витяжку переходить амоній що знаходиться в обмінному стані, а також амоній розчинних у воді амонійних солей. Оскільки амоній водорозчинних солей становить лише невелику частина азоту, що переходить у сольову витяжку, вважають цей метод методом визначення обмінного амонію.

#### Матеріали, обладнання та реактиви:

Конічні колби на 250-300 см<sup>3</sup>, мірні колби на 50 см<sup>3</sup>, 1 н KCl, фільтрувальний папір синя стрічка, аналітичні ваги, іономір, електроди для визначення NO<sub>3</sub><sup>-</sup> та NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

### **Хід роботи:**

Попередньо висушують ґрунт у сушильній шафі при 105°C до постійної маси.

#### **Визначення амонійного азоту**

Зважують 10 г ґрунту і переносять в колбу на 250 см<sup>3</sup>. Наважку ґрунту заливають 100 см<sup>3</sup> 1 н розчину KCl. Збовтують на качальці протягом 30 хв, а потім фільтрують суспензію в мірну колбу на 200 см<sup>3</sup>.

Коли вся суспензія буде відфільтрована, в колбу з ґрунтом додають 20 см<sup>3</sup> 1 н розчину KCl і зливають його порціями на фільтр, намагаючись змити всі частинки ґрунту, що залишилися на стінках колби. Цю операцію повторюють 4-5 разів. Кожну нову порцію 1 н розчину KCl доливають лише тоді, коли попередня порція повністю профільтрувалася. На закінчення тим же розчином KCl доводять вміст колби до мітки і, закривши пробкою, збовтують для перемішування.

В отриманій пробі за допомогою іоніміру визначають концентрацію NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, та роблять перерахунки [1].

Кількість амонійного азоту в кг ґрунту визначають за формулою:

$$A = \frac{a \cdot 20}{b}$$

де А - вміст NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, мг/100г ґрунту;

а – вміст амонійного азоту в наважці, мг/дм<sup>3</sup>

б - наважка ґрунту, що відповідає об'єму взятого фільтрату, ( 10 г).

20 - коефіцієнт для перерахунку на 100 г ґрунту.

#### **Визначення нітратів**

Водні витяжки можуть бути підготовані при будь-якому співвідношенні води і ґрунту. Однак прийнято готувати водні витяжки при співвідношенні 1:5, тобто на 1 частину наважки брати 5 частин води. Беруть 30 г ґрунту і 150 см<sup>3</sup> дистильованої води. Потім перемішують протягом 10 хвилин і фільтрують через щільний паперовий фільтр (синя стрічка).

В отриманій пробі за допомогою іоніміру визначають концентрацію NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Кількість нітрату в кг ґрунті визначають за формулою:

$$A = \frac{a \cdot 100}{b}$$

де А - вміст NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, мг/100г ґрунту;

а – вміст нітрату в розчині; мг/дм<sup>3</sup>

б - наважка ґрунту, що відповідає об'єму взятого фільтрату.

100 - коефіцієнт для перерахунку на 100г ґрунту.

У висновках порівняти отримані результати зі значеннями, які характерні для різних типів ґрунту.

### **Список використаної літератури**

1. Иономер лабораторный и 160ми [Текст]: руководство по эксплуатации. – ООО «Измерительная техника», 2007. – 69 с.
2. Сухарева О.Ю., Базель Я.Р., Сухарев С.М. Лабораторні роботи з курсу “Аналіз природних об’єктів і продуктів харчування”. Частина 1. – Ужгород: Вид-во Ужгородського національного університету, 2005. – 52 с.
3. Сухарев С.М., Чундак С.Ю., Сухарева О.Ю. Техноекоелогія та охорона навколишнього середовища: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. – Львів: “Новий Світ-2000”, 2004.-256с.

## Лабораторна робота №4

### Визначення вмісту сполук фосфору у компості

**Мета роботи:** опрацювати методику визначення концентрацій фосфору у компості.

#### Теоретичні відомості.

Фосфор входить до складу органічних і мінеральних сполук ґрунту. Вміст загального фосфору в ґрунтах становить 0,05–0,15 %  $P_2O_5$ . Органічні сполуки фосфору представлені в основному фосфоліпідами, нуклеїновими кислотами та їхніми похідними, гексозофосфатами, фосфопротеїдами. Фосфор входить до складу гумінових і фульвокислот гумусу. У чорноземних ґрунтах вміст фосфору органічних сполук переважає над мінеральними, а в дерново-підзолистих – навпаки. Фосфор органічних сполук доступний рослинам після гідролітичного розкладання їх фосфатазами і мікроорганізмами ґрунту. Значна частина фосфору ґрунту перебуває у важкодоступних формах, які стають доступними рослинам внаслідок дії на них корневих виділень і мікроорганізмів. Внесення добрив сприяє нагромадженню в ґрунті органічних і мінеральних сполук фосфору [3].

У живленні рослин основна роль належить мінеральним сполукам фосфору, які представлені залишками апатиту, фосфориту, солями фосфорних кислот. Мінеральні сполуки фосфору в ґрунті, що перебувають у постійній взаємодії та динамічній рівновазі, можна поділити на три групи: сполуки фосфору, які є в ґрунтовому розчині; осаджені або адсорбовані сполуки фосфору на поверхні твердих фаз ґрунту; важкорозчинні фосфати, які є в мінеральному скелеті ґрунту в первинних і вторинних мінералах (ця група є резервом, за рахунок якого можуть поповнюватися запаси фосфатів на поверхні твердих фаз).

У живленні рослин важлива роль належить також сполукам фосфору, які перебувають у ґрунтовому розчині. Основними і найбільш засвоюваними сполуками є солі фосфатної кислоти. Метафосфати і пірофосфати меншою мірою засвоюються рослинами. Рослини найкраще засвоюють дигідрофосфати ( $Ca(H_2PO_4)_2$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $NaH_2PO_4$ ,  $NH_4H_2PO_4$ ), які вважають водорозчинними. Менш

доступні для рослин гідрофосфати ( $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{MgHPO}_4$ ), які розчинні в слабких кислотах. Фосфати  $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$  розчинні у сильних кислотах.

Засвоюваність фосфору рослинами значною мірою залежить від процесів поглинання сполук фосфору. Внаслідок поглинання аніони фосфатної кислоти спочатку адсорбуються обмінними колоїдами ґрунту. У кислому середовищі глинисті мінерали адсорбують фосфат-іони. Аніони карбонатів і органічних кислот, гумат натрію витісняють адсорбовані фосфат-іони. Цим і пояснюється велика доступність адсорбованих фосфат-іонів [2,3,4].

Обмінно-поглинуті фосфат-іони поступово переходять у хімічно осаджені. Внаслідок хімічного осадження дигідрофосфати переходять у гідрофосфати, що зумовлює меншу розчинність і доступність сполук фосфору рослинам. У нейтральних і карбонатних ґрунтах утворюються в значній кількості фосфати кальцію і магнію, у кислих – фосфати заліза та алюмінію. Фосфор фосфату алюмінію більш доступний для рослин, ніж фосфор фосфату заліза. Фосфати кальцію і магнію, що утворилися, спочатку перебувають в аморфному стані, їх фосфор лише частково доступний рослинам.

Залежно від мети і завдань, які стоять перед дослідником, у ґрунті можуть визначати: загальний вміст фосфору, вміст органічних і мінеральних сполук фосфору, вміст і рухомість сполук фосфору, ступень рухливості фосфатів, груповий і фракційний склад фосфатів тощо.

Визначення сполук фосфору в ґрунті складається з кількох етапів.

1. Переведення фосфору з твердої фази ґрунту в розчин, внаслідок чого отримують ґрунтові витяжки, які містять ті чи інші сполуки фосфору. Це можна здійснити за допомогою сплавлення наважки ґрунту з содою, розкладанням її плавиковою кислотою, обробкою при нагріванні або на холоді концентрованими і розбавленими мінеральними кислотами, буферними чи сольовими розчинами тощо.

2. Підготовка ґрунтових витяжок до аналізу: знебарвлення, окиснення, випарювання, відновлення, осадження та ін.

3. Визначення фосфору в розчинах різними методами: гравіметричним, титриметричним, фотометричним. Найбільш поширеним, зручним і швидким є

фотометричний метод визначення сполук фосфору в ґрунтових витяжках.

Для різних ґрунтів характерні певні сполуки фосфору. Залежно від їхнього складу вибирають конкретний метод визначення сполук фосфору[2,3].

Враховуючи переважаючі сполуки фосфору у ґрунті і їхню доступність рослинам, застосовують різні екстрагенти для вилучення рухомих сполук фосфору (0,2 н розчин  $\text{HCl}$ , розчини оцтової і сульфатної кислот тощо). Тому основною відмінною властивістю методик визначення рухомих сполук фосфору є розчинник, який застосовують для вилучення певних рухомих сполук фосфору з ґрунту. Кількісно визначають фосфор у більшості методик колориметричним методом. Наприклад, рухомі сполуки фосфору в дерново-підзолистих і сірих лісових ґрунтах визначають методом Кірсанова, в чорноземах некарбонатних – за методом Чирікова, в карбонатних ґрунтах – за методами Мачигіна, Олсена, в кислих, нейтральних і карбонатних ґрунтах – за методом Брейя і Куртца [2].

Фракційний склад мінеральних сполук фосфору визначають за методами Чанга – Джексона, Гінзбург – Лебедевої, груповий склад – за методом Чирікова.

Оптимальний вміст рухомого фосфору в кислих і нейтральних ґрунтах становить 100–150 мг  $\text{P}_2\text{O}_5$  на 1000 г ґрунту, в карбонатних – 30–35 мг [2].

Для визначення рухомого фосфору в кислих підзолистих ґрунтах широко застосовують метод Кірсанова. Метод заснований на екстрагуванні фосфору з ґрунту 0,2 н розчином соляної кислоти при відношенні ґрунту до розчину 1:5 з наступним визначенням концентрації фосфору на фотоелектроколориметрі. Забезпеченість рухомих фосфором (у мг/100 г ґрунту) ґрунтів оцінюється за шкалою[2]:

- Дуже низька < 3,0
- Низька 3,1 - 8,0
- Середня 8,1 - 15,0
- Підвищена 15,1 - 20,0
- Висока 20,1 - 30,0

При взаємодії ортофосфат-іонів з молібдатом в кислому середовищі утворюється жовта гетерополікислота, яка під дією відновників перетворюється в

інтенсивно забарвлену синю сполуку. Були запропоновані різні відновники, але з них найбільш стійкі, постійні за складом продукти реакції дає лише аскорбінова кислота, яка є слабким відновником. Однак відновлення аскорбіновою кислотою, відбувається тільки при підвищеній температурі, тобто в умовах, коли поліфосфати і органічні ефіри фосфорної кислоти гідролізують з утворенням ортофосфорної кислоти. Введення в розчин солі стибію призводить до утворення більш складної сполуки, до складу якого входить стибій у співвідношенні  $\text{Sb:P} = 1:1$ . Реакція тоді проходить швидко і при кімнатній температурі, підвищується інтенсивність забарвлення, а поліфосфати і складні ефіри фосфорної кислоти в цих умовах в реакцію не вступають, результати показують лише вміст ортофосфат-іонів в пробі.

Ортофосфати після реакції з молібдатом в середовищі сульфатної кислоти, в присутності іонів тривалентного стибію і після відновлення аскорбіновою кислотою забарвлюють розчин у синій колір, що дає можливість їх виміряти [1].

Методика встановлює алгоритм кількісного визначення фосфатів у розчинах з діапазоном вмісту 2 - 5 мг/дм<sup>3</sup> у перерахуванні на  $\text{P}_2\text{O}_5$ .

Методика є обов'язковою для аналітичної служби органів державного контролю за рівнем забрудненім та станом навколишнього природного середовища.

### **Матеріали та обладнання:**

Спектрофотометр та кювети товщиною 5 см, ваги лабораторні аналітичні, таймер або годинник пісочний, колби мірні 100, 500, 1000 см<sup>3</sup>, піпетки мірні градуйовані об'ємом 2, 5, 10, 25 см<sup>3</sup>, циліндри мірні об'ємом 25, 50, 100 см<sup>3</sup>, фільтри паперові знезолені «синя стрічка»;

### **Хід роботи**

#### **Приготування реактивів:**

1. Основний розчин дигідрофосфат калію  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – готують таким чином, щоб 1 см<sup>3</sup> розчину відповідав 0,1 мг  $\text{P}_2\text{O}_5$ .
2. Стандартний розчин  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  отримують з основного розбавленням точно в 10 разів; 1 см<sup>3</sup> містить 0,01 мг  $\text{P}_2\text{O}_5$ .

3. Змішаний реактив готується безпосередньо перед проведенням визначення концентрації фосфатів.

Усі розчини (крім розчину сульфатної кислоти) зберігаються у холодильнику.

Приготування реактивів для змішаного розчину:

1. Розчин сульфатної кислоти готують шляхом доливання  $70\text{ см}^3$  концентрованої сульфатної кислоти до води  $400\text{ см}^3$ , проводять перемішування, а потім після охолодження доводять до  $500\text{ см}^3$ .
2. Розчин аскорбінової кислоти :  $2,68\text{ г}$  аскорбінової кислоти розчинити в  $100\text{ см}^3$ .
3. Розчин молібденовокислого амонію:  $3\text{ г}$  молібденово кислого амонію розчиняють у  $100\text{ см}^3$  дистильованої води.
4. Розчин калія антимоїлтарtrat:  $0,048\text{ г}$   $\text{SbOKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$  розчиняють у  $100\text{ см}^3$  дистильованої води.

Змішаний розчин готують шляхом додавання  $25\text{ см}^3$  сульфатної кислоти (1),  $10\text{ см}^3$  аскорбінової кислоти,  $10\text{ см}^3$  розчину молібденовокислого амонію (3) та  $5\text{ см}^3$  калій сурм'яновиннокислого (4).

### **1. Побудова градувального графіка:**

1. Готують серію 5-8 розчинів з різної концентрацією фосфат-іонів  $0.0$ ;  $0.02$ ;  $0.05$ ..... $1.00\text{ мг/дм}^3$ , для чого послідовно відбирають  $0.0$ ;  $1.0$ ;  $2.5$ .... $50.0\text{ см}^3$  робочого розчину фосфату калію у  $100\text{ см}^3$  мірні колби, додають трохи дистильованої води і перемішують.
2. Далі у кожену колбу по черзі додають  $5\text{ см}^3$  змішаного реактиву та доводять дистильованою водою до  $100\text{ см}^3$  та перемішують.
3. Через  $15$  хвилин визначають оптичну густину на спектрофотометрі при  $\lambda=690\text{ нм}$ . Оптичну густину розчинів вимірюють у кюветах ( $5\text{ см}$ ), обнуляючи за оптичною густиною холостого визначення.
4. Будують калібрувальний графік.



## 2.Проведення дослідження:

10 г ґрунту, зважують на технічних вагах і пересипають в колбу на 100 см<sup>3</sup>. Туди ж доливають 50 см<sup>3</sup> 0,2 N HCl. Збовтують 1 хв. Дають відстоятися 15 хв. і фільтрують через складчастий фільтр. Беруть піпеткою 5-10 см<sup>3</sup> фільтрату в мірну колбу на 100 см<sup>3</sup>, доливають до половини водою, додають 5 см<sup>3</sup> змішаного реактиву і доводять до мітки водою. Перемішують, відстоюють 15 хв і вимірюють оптичну густину розчину на фотоелектроколориметрі при  $\lambda=690\text{nm}$ .

Вміст фосфору розраховують за формулою:

$$P = \frac{a \cdot V \cdot 1000}{V_1 \cdot b}$$

де P- кількість P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> в мг на 100 г повітряно-сухого ґрунту;

a – значення концентрації з градууювального графіку, мг/дм<sup>3</sup>;

b - наважка ґрунту, г ;

V- загальний об'єм фільтрату, см<sup>3</sup>

V<sub>1</sub> - об'єм фільтра в колбі, см<sup>3</sup>

1000 - коефіцієнт для перерахунку на 1 кг ґрунту.

Роблять висновки про якість ґрунту для вирощування сільськогосподарських культур.

## Контрольні запитання:

1. Як впливають сполуки фосфору на ріст та розвиток рослин?
2. В яких сполуках у живих організмах міститься фосфор та в яких формах?
3. Як впливають сполуки фосфору на водні екосистеми?
4. На якому принципі базується метод визначення сполук фосфору?

## Перелік використаної літератури:

1. ДСТУ ISO 6878:2003 Якість води. Визначення фосфору. Спектрометричний метод із застосуванням молібдату амонію.

2. Сухарева О.Ю., Базель Я.Р., Сухарев С.М. Лабораторні роботи з курсу “Аналіз природних об’єктів і продуктів харчування”. Частина 1. – Ужгород: Вид-во Ужгородського національного університету, 2005. – 52 с.
3. Сухарев С.М., Чундак С.Ю., Сухарева О.Ю. Техноекологія та охорона навколишнього середовища: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. – Львів: “Новий Світ-2000”, 2004.-256с.
4. Сухарев С.М., Чундак С.Ю., Сухарева О.Ю. Основи екології та охорони довкілля: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. К.: Центр навчальної літератури, 2006. – 394 с.

## Лабораторна робота 5.

### Визначення вмісту гумусу, органічного вуглецю в компості

**Мета роботи:** визначити вміст гумусу (у відсотках) та органічного вуглецю у дослідних зразках компосту двома методами.

#### Теоретичні відомості

Лабораторна робота базується на ДСТУ Б В.2.1-16:2009. Методи лабораторного визначення вмісту органічних речовин у ґрунті. Національний стандарт України [1].

Гумус - сукупність всіх органічних сполук у ґрунтовому профілі, які втратили зв'язок з елементами структурної організації клітин і тканин.

Для встановлення кількості гумусу визначають вміст вуглецю органічних речовин, що розклалися у ґрунті, - органічного вуглецю.

Для визначення органічного вуглецю застосовують методи:

- оксидометричний;
- спалювання.

Оксидометричний метод застосовують для визначення органічного вуглецю в піщаних і глинистих ґрунтах, які містять менше ніж 10 % гумусу, а в ґрунтах, які містять хлориди, - після видалення останніх.

Метод не допускається застосовувати для визначення органічного вуглецю в піщаних і глинистих ґрунтах морського, лиманного, старичного, озерного та болотного походження.

Вміст органічного вуглецю в ґрунті визначають у відсотках сухої речовини проби та перераховують на кількісний вміст гумусу, застосовуючи коефіцієнт 1,724.

Вміст вуглецю в чорноземах коливається в межах 3-6 %, найвищі значення до 12 %.

#### Оксидометричний метод

Органічну речовину окиснюють калій біхромат у сильно кислому середовищі до утворення вуглекислоти, потім титруванням виділяють надлишок

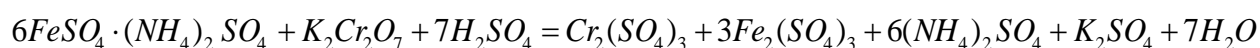
калій біхромата розчином солі Мора та визначають вміст органічного вуглецю в ґрунті за різницею об'ємів солі Мора, витрачених на титрування двохромовоокислого калію в досліді без ґрунту та у досліді з ґрунтом.

Реакція окиснення відбувається за рівнянням:



Невитрачений на окиснення залишок хромової суміші відтитровують сіллю Мора. За різницею між результатами холостого визначення та результатами, отриманими для наважки ґрунту, визначають кількість гумусу в ґрунті. Таким методом можна визначити вміст гумусу до 10 %. Тому для проведення досліді з компостом його розводять прокаленим піском в 4 рази.

Надлишок двохромовоокислого калію відтитровують солью Мора за реакцією:



Маса проби ґрунту для аналізу залежить від вмісту гумусу.

Забарвлення сухого ґрунту	Вміст гумусу, %	Вага наважки, г
Дуже чорне або темно-коричнє	10-15	0,05 - 0,1
Чорне або коричневе	7-10	0,1 - 0,15
Темно-сіре	4-7	0,15 - 0,2
Сіре	2-4	0,2 - 0,6
Світло-сіре	1-2	0,5 - 1
Білясте	< 1	1,0

Приготування розчинів біхромату калію, солі Мора і фенілантранілової к-ти: Розчин  $K_2Cr_2O_7$  в розведеній сульфатній кислоті. Беруть 40 г тонко подрібненого в фарфоровій ступці кристалічного  $K_2Cr_2O_7$  розчинити приблизно в 500-600 см<sup>3</sup> дистильованої води (можна підігріти для кращого розчинення), профільтрувати. Довести об'єм дистильованою водою до 1 дм<sup>3</sup>. Розчин перелити у велику

термостійку колбу і туди долити невеликими порціями (приблизно по 100 см<sup>3</sup>) 1 дм<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, обережно перемішуючи (розчин підвищує температуру). Розчин закривають і залишають стояти добу до повного охолодження.

Сіль Мора 0,2 н розчин - 80 г солі Мора насипати в термостійку (відбувається екзотермічна реакція) колбу, об'ємом 1 л, додати 1 н розчин сульфатної кислоти на 2/3 колби, профільтрувати, після цього довести об'єм до мітки 1 л дистильованою водою і добре перемішати.

Робочий розчин фенілантранілової кислоти – підготувати 0,2 % розчин соди. Розчинити 0,2 г фенілантранілової кислоти в 100 см<sup>3</sup> розчину соди (спочатку до кислоти додають кілька краплин розчину соди, розтирають паличкою до кашоподібного стану і далі доливають розчин перемішуючи). Розчин фенілантранілової кислоти може зберігатися тривалий час (декілька місяців у холодильнику).

#### **Обладнання, матеріали та реактиви:**

зразки ґрунту, аналітичні ваги, бюретки, колби на 100 см<sup>3</sup> з пробкою-холодильником, електрична плита, промивалка.

Муфельна піч, скляні бюкси, фарфорові тиглі, кришки на тиглі, 0,4 н розчин K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> у H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> розведених (1:1); 0,2 н розчин солі Мора (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>FeSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O; розчин фенілантранілової кислоти.

#### **Хід роботи**

1. Підготувати ґрунт, компост – висушити до повітряно-сухого стану, видалити всі органічні включення – корінці, листки, розтерти і просіяти через сито з отворами 0,25 мм, та змішати сухий компост з попередньо прокаленим за 800<sup>0</sup>С піском у співвідношенні 1:3. Взяти наважки 0,1 г повітряно-сухого компосту та 0,3 г піску. Суміш старанно перемішати.

2. Взяти наважку отриманої суміші 0,05 г та помістити у суху конічну колбу на 100 см<sup>3</sup>.

3. Доливають у колбу 10 см<sup>3</sup> 0,4 н розчину K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> у сульфатній кислоті (хромова суміш).

4. Колбу закривають пробкою-холодильником та ставлять на електричну плитку. По мірі нагрівання з рідини виділяються бульбашки CO<sub>2</sub>, після цього розчин закипає. Кипіння повинно бути слабким та продовжуватися не більше 5 хвилин.

При кип'ятінні забарвлення розчину повинно змінюватися від жовтогарячого до бурувато-коричневого. Якщо з'являється зелене забарвлення, це говорить про повну витрату хромової кислоти та можливу нестачу її на окислення гумусу. Дослід слід повторити, зменшивши наважку ґрунту.

5. Після кипіння колбу охолоджують. Дистильованою водою обливають пробку та горло колби, доводячи об'єм у ній до 30-40 см<sup>3</sup>. Додають 4 краплі індикатора - фенілантранілової кислоти і титрують 0,2 н розчином солі Мора до переходу червоно-бурого забарвлення через фіолетове в прозоро-зелене. Після забарвлення розчину у фіолетово-сірий колір титрування треба вести по одній краплині, ретельно розмішуючи суміш.

6. Визначити скільки солі Мора йде на титрування 10 см<sup>3</sup> K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> - холосте визначення (зробити все у тій же послідовності, тільки без наважки ґрунту, насипаючи заміст неї добре прокалений пісок (при 800<sup>0</sup>C).

7. Обчислюють процент вуглецю (C) у ґрунті за формулою:

$$C = \frac{100 \cdot (a - b) \cdot N \cdot 0.003}{m}$$

де *a* – кількість солі Мора, витраченої на холосте титрування, см<sup>3</sup>;

*b* – кількість солі Мора, витраченої на титрування дослідженого зразку, см<sup>3</sup>;

*N* – нормальність солі Мора (0,2);

*m* – наважка ґрунту, г.

Отримане значення для компосту потрібно помножити на 4 (кратність розведення проби піском).

8. Вміст гумусу обчислюють за формулою (вміст органічного вуглецю у гумусі близько 58%):

$$H = C \cdot 1,724$$

### **Метод спалювання**

Метод оснований на отриманні різниці при прокалюванні компосту за температури 900<sup>0</sup> С. Під час прокалювання компост втрачає гумус і адсорбовані гази. Тому порівнюючи різницю у вазі висушеного до видалення гігроскопічної води (5 год за 105<sup>0</sup>С) та прокаленого (1 год за 900<sup>0</sup>С) можна вирахувати вагу органічної речовини компосту.

1. Зважують у фарфоровом тиглі 1,0 г повітряно сухого компосту, просіяного через сито
2. Тигель з наважкою поміщають в холодну муфельну піч та прокалюють при температурі 900<sup>0</sup>С 1 годину (час рахують з моменту розігріву печі до потрібної температури)
3. Виймають тигель з муфельної печі, закривають кришкою та ставлять у ексикатор для охолодження.
4. Потім зважують тигель на аналітичних вагах.

Прокалений ґрунт надзвичайно гігроскопічний та активно вбирає вологу. Тому для точних вимірів ґрунт (компост) прокалюють повторно протягом 10-20 хв (тигель можна ставити у вже нагрітий муфель). При повторному зважуванні встановлюють ваги на відповідність попередньому зважуванню, потім швидко встановлюють тигель и зважують. За правильну вагу приймають найменшу.

Паралельно встановлюють вміст гігроскопічної вологи в компості.

5. Для цього в закритому бюксі зважують 1,0 г повітряно-сухого компосту, відкривають і ставлять до сушильної шафи на 5 годин (у двох повторностях) за температури 105<sup>0</sup>С. **Протягом сушіння не можна відчиняти шафу.**

6. Після висушування бюкси охолоджують в ексикаторі та зважують.
7. Розраховують вміст гігроскопічної води в компості за різницею у масі (абсолютне значення та у відсотках). Розраховують середнє значення у двох повторностях.
8. Розраховують вміст гумусу у компості як масову різницю втрати маси при прокалюванні та вмісту гігроскопічної води.

Порівнюють дані щодо вмісту гумусу в компості, отримані двома методами. Порівняти отримані значення вмісту органічної речовини в компості зі значеннями вмісту гумусу в ґрунтах України.

### **Контрольні запитання:**

1. Як впливають органічні сполуки на ріст та розвиток рослин?
2. На якому принципі заснований метод спалювання?
3. Як обчислюють відсоток вуглецю у ґрунті?

### **Перелік використаної літератури:**

1. ДСТУ Б В.2.1-16:2009 Методи лабораторного визначення вмісту органічних речовин.



## Лабораторна робота №6

### Біотестування залишкової токсичності рослин та аналіз компосту на загальну токсичність за допомогою насіння редису

**Мета роботи :** визначити токсичність компосту та залишкову токсичність у рослин, які оброблялись добривами та пестицидами.

#### Теоретичні відомості

В останні роки проблема охорони довкілля від забруднення важкими металами заохочує все більше увагу дослідників. Значний інтерес представляє вивчення процесів адаптації живих тварин до таких антропогенних факторів. Амфібії, рептилії, риби є важливими компонентами біоценозів, що відчують хімічне навантаження на складові екосистем.

Біотестування передбачає можливість використання тест-об'єктів і тест-реакції для оцінки рівня забруднення довкілля, здійснення постійного моніторингу за його якістю та змінами [1,4].

Типові тест-об'єкти і тест-реакції що використовуються під час біотестування наведені в табл. 6.1[4].

Таблиця 6.1

Типові тест-об'єкти і тест-реакції, що використовуються  
під час біотестування

Тест-об'єкт	Тест-реакція
Бактерії <i>Bacillus cereus</i> <i>Benckesia harveyi</i>	Інтенсивність розмноження, біолюмінесценція, активність окиснювальних ферментів, проникність мембрани, механічна міцність
Гриби й актиноміцети <i>Aspergillus niger</i> <i>Streptomyces olivaceus</i>	Реакція росту
Водорості <i>Scenedesmus quadricauda</i> <i>Sc. acuminatus</i> <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Euglena gracilis</i> <i>Nitella flexilis</i>	Інтенсивність розмноження, рухлива активність, іммобілізація клітин, біоелектричні реакції, фотосинтетична активність клітин, імпеданс суспензії, проникність мембрани, активний транспорт

Dunaliella salina D.viridis Cladophora Fracta	
Найпростіші Tetrahymena pyroformus Spirostomun ambiguum Euplotes sp.	Інтенсивність розмноження, рухлива активність, морфологічні зміни тіла, інтенсивність дихання, активний транспорт
Безхребетні Daphnia magna Hydra attenuate Hirudo medicinales Unio tumidus	Виживання, інтенсивність дихання та серцебиття, поведінкова реакція
Риби Perca fluviatilis Phoxinus phoxinus Cyprinus carpio	Поведінкова реакція, рухлива активність, інтенсивність дихання та серцебиття, зміна пігментації шкіри

Особливе місце серед тест-об'єктів займають водорості, найпростіші та бактерії.

Широко використовуються як тест-об'єкти найпростіші для біотестування важких металів, органічних сполук стічних вод. Наприклад, для встановлення гранично допустимої токсичності зворотних вод найбільш точною слід вважати методику визначення гострої летальної токсичності на ракоподібних [3-5].

Для виявлення важких металів, поверхнево активних речовин, пестицидів як тест-реакції використовують параметри фоторуху водоростей. Такі одноклітинні організми, як найпростіші та водорості, легко рахувати, вони є зручними в експлуатації тест-об'єктами.

Необхідність визначення показника фітотоксичності ґрунтів частіше виникає при проведенні моніторингу хімічного забруднення ґрунтів або під час оцінки можливостей використання різних відходів (компостів, осадів стічних вод або самих стічних вод) для меліорації або утворення ґрунтів.

Для цього використовують простий метод паростків, що полягає в дослідженні реакції тест-культури при внесенні в ґрунт добрив, меліорантів, забруднюючих речовин та ін. За цим методом в досліджуваному і контрольному (незабрудненому або без домішок) ґрунті пророщують насіння і фіксують енергію проростання, довжину надземної та кореневої систем рослин, маси сухої речовини у надземній та підземній частинах рослин та ін. [2].

Бажано мати тест культури, що швидко проростають і є звичними для господарств даного регіону. Так для вивчення дерново-підзолистих ґрунтів використовують овес та горох; для степових ґрунтів це можуть бути пшениця, люцерна, боби, квасоля. При цьому бажано використовувати азот фіксуючі (бобові) та не фіксуючі азот (злакові) рослини. Однією з класичних тест-культур вважають огірок.

Дослідження проводять при підтримці постійної вологості ґрунту (на рівні 70 % від повної вологості), яку перед дослідженням визначають стандартним методом: зважують сухий ґрунт і додають розрахований об'єм води, щоб досягти вологості 70 %; після першого зволоження ґрунт разом з дослідною посудиною зважують; потім періодично повторюють зважування, а втрату вологості компенсують додаванням певної кількості води [2].

**Обладнання та матеріали:** чашки Петрі, фільтрувальний папір, вода дистильована, хімічний посуд, колби, качалка для колб, лінійка метрична.

## **Хід роботи**

### **6.1. Біотестування залишкової токсичності рослин**

Під час санітарно-ветеринарної експертизи як тест-об'єкт використовують мух. Як приклад, розглянемо біотестування залишкової токсичності рослин (залишків пестицидів) за допомогою тест-об'єкта плодової мухи (дрозофіли): вона добре розмножується на поживному середовищі, має короткий (9–12 діб) цикл розвитку, а також її культуру легко отримати в лабораторних умовах.

Беруть рослини, що вирощувалися на обробленій пестицидами ділянці. Готують суміш із різних частин декількох рослин, розтирають до однорідної маси, в яку додають декілька грам яблучного пюре. Виготовлена таким чином паста наноситься на дно та стінки циліндричних склянок (об'ємом 100 см<sup>3</sup>) по 10 т в кожену. Склянки ставлять верхи дном на лист фільтруючого паперу (щоб запобігти герметизації) і підсаджують в них мух одного віку.

Контролем служать мухи, що живуть в склянці з чистим (без рослинної маси) яблучним пюре. Через 1-2 доби рахують кількість загиблих комах (в відсотках від контролю).

Рівень залишкової токсичності досліджуваного рослинного матеріалу визначають наближено за п'ятибальною шкалою:

- 1 бал – рослини мають вкрай велику кількість пестицидів ( всі дослідні комахи гинуть менше, ніж за 24 години);
- 2 бали – рослини містять велику кількість пестицидів ( гине 100 % комах за 24 години);
- 3 бали – рослини містять підвищену кількість пестицидів ( гине 70 % комах за 24 години);
- 4 бали – рослини містять мало пестицидів ( гине не більше 30 % комах за 24 години);
- 5 бали – рослини умовно вільні від пестицидів (кількість досліджуваних комах не відрізняється від контрольного досліду).

## 6.2. Біотестування залишкової токсичності ґрунту

Для визначення загальної токсичності компосту проведуть наступні дії:

1. Пробопідготовка: 10 г компосту вносимо в колбу об'ємом 250 см<sup>3</sup>, додаємо 100 см<sup>3</sup> дистильованої води. Колбу закриваємо пробкою і збовтуємо на качалці протягом 2 год при 60 коливаннях за хвилину. Отриману водну компостну витяжку фільтруємо через складчасті фільтри в чисті колби. Для контролю використовуємо дистильовану воду.

2. Відбираємо насіння, розподіляємо рівномірно по 25 шт на одну чашку Петрі, заливаємо 10 см<sup>3</sup> компостної витяжки.. Пророщуємо насіння протягом 72 годин при кімнатній (21-23 С) температурі.

3. Розраховуємо фітотоксичний ефект, що визначається у відсотках щодо довжини стеблової системи за формулою:

$$\Phi E = \frac{M_o - M_x}{M_x} \cdot 100\%$$

Мо - ростові показники рослин у ємності з контролем; Мх – ростові показники рослин у ємності з досліджуваним ґрунтом.

### Шкала рівнів токсичності ґрунті

Рівні пригнічення ростових процесів, (фітотоксичний ефект), %	Рівень токсичності
0 – 20	Відсутність, або слабкий рівень токсичності
20,1 – 40	Середній рівень
40,1 – 60	Вище середнього рівня
60,1 – 80	Високий рівень
80,1 – 100	Максимальний рівень

### Контрольні питання та завдання:

1. Роль хімічних методів аналізу в дослідженнях екологічного стану довкілля.
2. В чому полягає сутність гравіметричного аналізу?
3. В яких випадках застосовують гравіметричний аналіз?
4. Роль біологічних методів аналізу в дослідженнях екологічного стану довкілля.
5. Які основні напрями біологічного контролю за станом довкілля?
6. Які біологічні системи використовують як біоіндикатори?
7. Які основні складові біотестування?
8. Які рослини-індикатори вказують на хімічний склад ґрунтових вод та їх залягання?
9. Роль зооіндикації в дослідженнях екологічного стану довкілля.
10. Які існують види і методи біотестування?

## **Перелік використаної літератури:**

1. Біоіндикація та біотестування : навчальний посібник. / В. В. Никифоров, С. В. Дігтяр, О. В. Мазницька, Т. Ф. Козловська – Кременчук : КрНУ, 2016. – 100 с.
2. Наказ міністерства охорони здоров'я України N 116 від 13.03.2007 Про затвердження методичних рекомендацій "Обстеження та районування території за ступенем впливу антропогенних чинників на стан об'єктів довкілля з використанням цитогенетичних методів"
3. Лисиця А.В. Біоіндикація і біотестування забруднених територій. Методичні рекомендації до самостійного вивчення дисципліни. Рівне: Дока-центр, 2018. – 94 с
4. Мусієнко М.М. Фітоіндикація та фітомоніторинг / М.М.Мусієнко // Екологія рослин: підручник / М.М.Мусієнко. – К., 2006. – С. 344-404.
5. Губачов О.І. Особливості використання рослин для біотестування ґрунтів з метою визначення рівня екологічної безпеки промислових територій // Науковий вісник КУЕІТУ. Нові технології. – 2010. –№ 3 (29) – С. 164-171.

# ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ТА ОХОРОНА ПРАЦІ ПРИ РОБОТІ В ЛАБОРАТОРІЇ

## 1. Загальні вимоги охорони праці

1.1 На роботу в біохімічну лабораторію приймаються особи, які досягли 18 років, що пройшли медичний огляд.

1.2 Нові працівники допускаються до виконання своїх обов'язків лише після проходження вступного інструктажу про забезпечення заходів безпеки, інструктажу на робочому місці і після співбесіди з питань техніки безпеки.

1.3 Проходження інструктажу є обов'язковим для всіх прийнятих на роботу незалежно від їх освіти, стажу роботи та посади, а також для людей, які проходять практику або виробниче навчання.

1.3 Періодичний інструктаж з техніки безпеки на робочому місці проводять двічі на рік.

1.4 При переведенні співробітника на нові види робіт, інші технологічні операції, перед роботою з новими речовинами, а також в разі порушення працівником правил техніки безпеки проводиться позаплановий інструктаж.

1.5 Проведення всіх видів інструктажу реєструється в журналі.

1.6 Розпорядженням по лабораторії призначаються відповідальні за дотриманням правил техніки безпеки в кожному робочому приміщенні, правильне зберігання легкозаймистих, вибухонебезпечних і отруйних речовин, санітарний стан приміщень, забезпеченість засобами індивідуального захисту та аптечками першої допомоги з необхідним набором медикаментів.

1.7 Проведення вступного інструктажу, контроль виконання правил техніки безпеки у всій лабораторії і ведення журналу інструктажу здійснює призначена завідуючим лабораторією посадова особа.

1.9 Усі працюючі в лабораторії повинні бути забезпечені необхідним спецодягом та засобами індивідуального захисту

## **2. Засоби індивідуального захисту**

2.1 При роботі в хімічній лабораторії необхідно одягати халат з бавовняної тканини.

2.2 При виконанні робіт, пов'язаних з виділенням отруйних газів і пилу, для захисту органів дихання слід застосовувати респіратори або інші засоби захисту.

2.3 При роботі з їдкими і отруйними речовинами додатково застосовують фартухи, засоби індивідуального захисту очей і рук.

2.3 Для захисту рук від дії кислот, лугів, солей, розчинників застосовують гумові рукавички. На рукавичках не повинно бути порізів, проколів та інших пошкоджень. Для захисту рук від дії високих температура слід використовувати бавовняні або інші термостійкі захисні рукавички.

2.5 Для захисту очей застосовують окуляри різних типів, щитки, маски.

## **3. Правила пожежної безпеки в лабораторії**

Всі приміщення лабораторії повинні відповідати вимогам пожежної безпеки та мати засоби пожежогасіння.

3.1 Лабораторія повинна бути оснащена пожежними кранами (не менше одного на поверх) з пожежними рукавами. У кожному робочому приміщенні повинні бути наявності вогнегасники.

3.2 У приміщенні лабораторії на видному місці повинен бути вивішений план евакуації співробітників в разі виникнення пожежі.

3.3 Розпорядженням по лабораторії з числа співробітників призначається група (3-5 чоловік), яка організовує всі протипожежні заходи, отримавши інструктаж місцевої пожежної команди.

3.4 Всі співробітники лабораторії повинні бути навчені правилам поведінки з вогне- та вибухонебезпечними речовинами, газовими приладами, а також повинні вміти поводитися з протигазом, вогнегасником та іншими засобами пожежогасіння, наявними в лабораторії.

3.5 У приміщеннях лабораторії і в безпосередній близькості від них (в коридорах,



під сходами) забороняється зберігати горючі матеріали і встановлювати предмети, які загороджують проходи і доступ до засобів пожежогасіння.

3.6 Без дозволу завідувача лабораторією та особи, відповідальної за протипожежні заходи, забороняється установка лабораторних і нагрівальних приладів, їх використання та переробка електропроводки.

3.6 Всі нагрівальні прилади повинні бути встановлені на термоізолюючих підставках.

3.8 Забороняється експлуатація несправних лабораторних і нагрівальних приладів.

3.9 Після закінчення роботи необхідно відключити електроенергію, газ та воду у всіх приміщеннях.

3.10 Кожен співробітник лабораторії, який помітив пожежу, задимлення або інші ознаки пожежі зобов'язаний: негайно сповістити пожежну службу по телефону; довести до відома завідувача лабораторією, який в свою чергу повинен сповістити співробітників, вжити заходів до їх евакуації та ліквідації пожежі. прийняти заходи щодо обмеження поширення вогню та ліквідації пожежі;

#### **4. Правила електробезпеки в лабораторії**

Всі приміщення лабораторії повинні відповідати вимогам електробезпеки при роботі з електроустановками.

4.1 Все електрообладнання з напругою понад 36 В, а також обладнання та механізми, які можуть виявитися під напругою, повинні бути надійно заземлені.

4.2 Для відключення електромереж на вводах повинні бути рубильники або інші доступні пристрої. Відключення всієї мережі, за винятком чергового освітлення проводиться загальним рубильником.

4.3 З метою запобігання електротравматизму забороняється:

- працювати на несправних електричних приладах і установках;
- перенавантажувати електромережу;

- переносити і залишати без нагляду ввімкнені електроприлади;
- працювати поблизу відкритих частин електроустановок, торкатися до них;
- загроможувати прохід до електричного пристрою.

4.4 Про всі виявлені дефекти в ізоляції проводів, несправності рубильників, штепсельних вилок, розеток, а також заземлення та огорожень слід негайно повідомити електрику.

4.5 У разі перерви в подачі електроенергії електроприлади повинні бути негайно вимкнені.

4.6 Забороняється використання в межах одного робочого місця електроприладів класу «0».

4.7 Категорично забороняється торкатися до корпусу пошкодженого приладу або струмопровідних частин з порушеною ізоляцією і одночасно до заземленого обладнання (інший прилад з справним заземленням, водопровідні труби, опалювальні батареї), або торкатися до ушкодженого приладу, стоячи на вологій підлозі.

4.8 У разі ураження електричним струмом необхідно якомога швидше звільнити потерпілого від дії електричного струму, відключивши електроприлад, якого торкається потерпілий. Відключення проводиться за допомогою вимикача або рубильника.

4.9 При неможливості швидкого відключення електроприладу необхідно звільнити потерпілого від струмопровідних частин дерев'яним або іншим предметом, який не проводить струм .

4.10 У всіх випадках ураження електричним струмом необхідно викликати лікаря.

## **5. Зберігання реактивів**

### **5.1 Загальні положення зберігання реактивів**

5.1.1 Лабораторні запаси реактивів повинні зберігатися в спеціально обладнаних, добре вентильованих, сухих місцях, згідно з правилами безпеки.

5.1.2 При розміщенні реактивів в лабораторії слід неухильно дотримуватися порядку сумісного зберігання горючих і вибухонебезпечних речовин.

Не дозволяється сумісне зберігання реактивів, здатних реагувати один з одним з виділенням тепла або горючих газів. Забороняється також спільно зберігати речовини, які в разі виникнення пожежі можна гасити одним вогнегасним засобом.

5.1.3 Забороняється розфасовувати сипучі речовини на складі.

5.1.4 Основним правилом при зберіганні і відборі реактивів є запобігання їх забруднення.

5.1.5 На всіх упаковках з реактивами повинні бути етикетки із зазначенням назви, кваліфікації та строку придатності.

5.1.6 Реактиви, які не можна зберігати в скляній тарі, поміщають в тару з матеріалів, стійких до дії даного реактиву. Наприклад, плавикову кислоту і луги зберігають в бутлях з поліетилену.

5.1.7 Реактиви, що розкладаються або змінюють свої властивості під дією світла (наприклад, діетиловий ефір, пероксиди, солі срібла), зберігають у склянках з темного або жовтого скла.

5.1.8 Гігроскопічні речовини і речовини, що окиснюються при контакті з повітрям, повинні зберігатися в герметичній тарі. Для герметизації пробок використовують парафін.

5.1.9 Відпрацьовані реактиви необхідно зливати в окремі ємності для подальшої переробки або передачі в організації, що займаються утилізацією хімічних речовин.

**Зливати концентраційні кислоти, луги, отруйні і горючі речовини в каналізацію забороняється!**

## 5.2 Зберігання хімічних реактивів в лабораторії

5.2.1 У робочих приміщеннях допускається зберігати нелеткі, не пожежонебезпечні і малотоксичні тверді речовини і водні розчини, розбавлені

кислоти і луги, в кількостях, необхідних для аналізів.

5.2.2 Концентровані кислоти в обсязі не більше 2 дм<sup>3</sup> зберігаються в скляному посуді з притертою скляними кришками або пластмасовими пробками в екзикаторі або скляній ємності з кришкою в витяжній шафі. Для кращої герметичності надягають гумові ковпачки.

5.2.3 Концентровані розчини лугів зберігають у витяжній шафі, окремо від кислот, в поліетиленовій тарі. Разом з лугами зберігається аміак.

5.2.4 Зберігання легкозаймистих рідин (ЛЗР) допускається в товстостінних, забезпечених герметичними пробками бутлях, місткістю не більше 1 дм<sup>3</sup>, особливо небезпечні ЛЗР – в обсязі не більше добової потреби. Бутлі з ЛЗР поміщають в спеціальні металеві ящики далеко від джерел тепла і окислювачів (хлоратів, нітратів, азотної кислоти, перекису водню, перманганатів).

5.2.5 Органічні речовини з різким запахом (піридин, ізоаміловий спирт і ін.) зберігаються в тарі, з добре закритими пробками та гумовими ковпачками.

5.2.6 Металева ртуть та інші отруйні речовини зберігаються в шафах, що замикаються (сейфах), в суворій відповідності з інструкціями по їх зберіганню.

5.2.7 Їдкі речовини (залізо трихлористе, йод, триетаноламін, валеріанова, пропіонова та ін. органічні кислоти), зберігаються в скляному посуді з пробками в металевому ящику під витяжною шафою. Для кращої герметичності на пробки надягають гумові ковпачки.

### 5.3 Правила зберігання пожежонебезпечних реактивів

До пожежонебезпечних відносяться вогненебезпечні, самозаймисті і вибухонебезпечні речовини.

5.3.1 Запаси пожежонебезпечних реактивів повинні зберігатися в ізольованих, добре вентильованих приміщеннях вдалині від опалювальних приладів і прямих променів сонця або в спеціалізованих шафах.

Гасіння пожежі водою і повітряно-механічною піною неприпустимо!

5.3.2 У місцях зберігання пожежонебезпечних реактивів заборонено розміщувати сторонні предмети і меблі, які затуляють доступ до засобів пожежогасіння.

5.3.3 Зберігання пожежонебезпечних речовин допускається в строго відповідній тарі, яка має етикетки з точним найменуванням речовини і написом «Вогненебезпечно» ( «Вибухонебезпечно»).

5.3.4 Спільне зберігання в одному приміщенні самозаймистих, вогненебезпечних та вибухонебезпечних речовин не допускається. При відсутності окремих приміщень допускається зберігання невеликих кількостей (10 - 15 г) вищеназваних речовин в одному приміщенні, але в окремих, щільно закритих залізних шафах.

5.3.5 Забороняється також спільно зберігати речовини, які здатні при своїй взаємодії викликати утворення полум'я або виділяти велику кількість тепла.

## **6. Правила роботи з хімічними речовинами**

### **6.1 Загальні положення**

При роботі в хімічній лабораторії необхідно дотримуватися вимог техніки безпеки.

6.1.1 При роботі з хімічними реактивами в лабораторії має знаходитися не менше двох співробітників.

6.1.2 Приступаючи до роботи, співробітники зобов'язані оглянути і привести в порядок своє робоче місце, звільнити його від непотрібних для роботи предметів.

6.1.3 Перед роботою необхідно перевірити справність обладнання, рубильників, наявність заземлення та ін.

6.1.4 Робота з їдкими і отруйними речовинами, а також з органічними розчинниками проводиться тільки в витяжних шафах.

6.1.5 Забороняється набирати реактиви в піпетки ротом, для цієї мети слід використовувати гумову грушу або інші пристрої.

6.1.6 При визначенні запаху хімічних речовин слід нюхати обережно, направляючи до себе пари або гази рухом руки.

6.1.7 Роботи, при яких можливе підвищення тиску, перегрів скляного приладу або його поломка з розбризкуванням гарячих або їдких продуктів, також виконуються

в витяжних шафах. Виконавець роботи повинен надіти захисні окуляри (маску), рукавички і фартух.

6.1.8 Під час виконання робіт в витяжній шафі стулки шафи слід піднімати на висоту не більше 20 - 30 см так, щоб в шафі знаходилися тільки руки, а спостереження за ходом процесу вести через скло шафи.

6.1.9 При роботі з хімічними реактивами необхідно вмикати і вимикати витяжну вентиляцію не менше ніж за 30 хвилин до початку, і після закінчення робіт.

6.1.10 Змішування або розведення хімічних речовин, що супроводжується виділенням тепла, слід проводити в термостійкому або фарфоровому посуді.

6.1.11 При упарюванні в стаканах розчинів слід ретельно перемішувати їх, так як нижні і верхні шари розчинів мають різну щільність, внаслідок чого може статися викидання рідини.

6.1.12 Щоб уникнути опіків, уражень від бризок і викидів не можна нахилятися над посудом, в якій кипить якась рідина.

6.1.13 Нагрівання посуду зі звичайного скла на відкритому вогні без азбестованої сітки заборонено.

6.1.14 При нагріванні рідини в пробірці тримати її слід отвором в сторону від себе і від інших співробітників.

6.1.15 За жодних обставин не можна допускати нагрівання рідин в колбах або приладах, що не сполучаються з атмосферою.

6.1.16 Нагріту посудину не можна закривати притертою пробкою доти, поки вона не охолоне до температури навколишнього середовища.

## 6.2 Робота з кислотами і лугами

6.2.1 Робота з концентрованими кислотами і лугами проводиться тільки в витяжній шафі і з використанням захисних засобів (рукавичок, окулярів). При роботі з димами азотної кислоти з питомою густиною 1,51 - 1,52 г / см<sup>3</sup>, а також з олеумом слід надягати також гумовий фартух.

6.2.2 Концентровані азотна, сірчана, соляна кислоти повинні зберігатися у витяжній шафі в скляному посуді ємністю не більше 2 дм<sup>3</sup>. У місцях зберігання

кислот неприпустимо знаходження легкозаймистих речовин. Розбавлені розчини кислот (за винятком плавикової) також зберігають в скляному посуді, а лугів - в поліетиленовій тарі.

6.2.3 Для приготування розчинів сірчаної, азотної та інших кислот їх необхідно доливати у воду тонким струменем при безперервному помішуванні. Для цього використовують термостійкий посуд, так як процес розчинення супроводжується сильним розігріванням.

#### **Доливати воду в кислоти забороняється!**

6.2.4 У разі попадання кислоти на шкіру уражене місце слід негайно промити протягом 10 - 15 хвилин струменем води, а потім нейтралізувати 2 - 5% розчином карбонату натрію.

6.2.5 Пролиту кислоту слід засипати піском. Після прибирання піску місце, де була розлита кислота, посипають вапном або содою, а потім промивають водою.

### **6.3 Робота з легкозаймистими рідинами (ЛЗР)**

До роботи з ЛЗР і іншими пожежонебезпечними речовинами допускаються співробітники, які вивчили інструкції з техніки пожежної безпеки та пройшли відповідний інструктаж.

6.3.1 Перед роботою з ЛЗР слід перевірити наявність і підготувати до використання первинні засоби пожежогасіння.

6.3.2 Забороняється проводити будь-які роботи з ЛЗР поза витяжною шафи!

6.3.3 Перегонку і нагрівання низькокип'ячих легкозаймистих рідин слід проводити в круглодонних колбах, встановлених на банях, заповнених відповідним теплоносієм (вода, масло, пісок). Для нагрівання бань слід користуватися електроплитками тільки з закритими нагрівальними елементами.

6.3.4 При перегонці ЛЗР слід постійно стежити за роботою холодильника.

6.3.5 Забороняється нагрівати на водяних банях речовини, які можуть вступати в реакцію з водою з вибухом або виділенням газів.

6.3.6 Лабораторні установки, в яких проводилося нагрівання ЛЗР, дозволяється розбирати тільки після охолодження їх до кімнатної температури.

6.3.7 У разі витоку або займання ЛЗР слід вимкнути всі електронагрівальні прилади, а при необхідності знеструмити лабораторію відключенням загального рубильника. Місце витоку ЛЗР слід засипати сухим піском, а потім зібрати його дерев'яним або пластиковим совком. Застосування металевих совків забороняється.

6.3.8 Необхідно суворо стежити за тим, щоб ємкості з ЛЗР не опинилися поруч з нагрітими предметами і не освітлювалися прямими сонячними променями, тому що всередині герметично закритій ємності створюється тиск, що може викликати руйнування скляної пляшки.

6.3.9 При заповненні скляних пляшок ЛЗР «під пробку» при підвищенні температури на 5 - 10 °C може відбутися руйнування бутля. Для запобігання цьому ЛЗР не доливають в бутлі приблизно на 10 мл.

6.3.10 Перекисні сполуки вимагають такої ж обережності в поводженні, як і інші пожежонебезпечні речовини. У процесі роботи з ними неприпустимо розігрівання перекисів вище температури їх розкладання.

6.3.11 Обов'язковою умовою роботи з перекисними сполуками є дотримання чистоти робочого місця, приладів і посуду.

6.3.12 Для гасіння органічних перекисів слід застосовувати воду, для неорганічних - сухий пісок, порошкові склади і вуглекислотні вогнегасники.

#### 6.4 Робота з твердими речовинами

6.4.1 Всі сухі реактиви необхідно брати порцеляновими ложками, шпателями. Брати реактиви незахищеними руками забороняється!

6.4.2 При зважуванні твердих речовин завжди треба користуватися тарою. Неприпустимо насипати речовини безпосередньо на чашку ваг.

6.4.3 Роботи з отруйними та шкідливими твердими речовинами слід проводити тільки у витяжній шафі і з усіма запобіжними заходами.

6.4.4 Необхідно проявляти обережність при змішуванні твердих речовин (особливо органічних), тому що утворюється пил може бути вибуховою.

Забороняється змішувати сухі реактиви поблизу включених електронагрівальних



приладів.

6.4.5 Роботу з порошкоподібними речовинами для запобігання їх розпилення потрібно проводити в таких місцях, де немає протягів або сильного руху повітря.

6.4.6 Випадково розсипаний реактив не можна висипати назад в ту ж банку, де він зберігається.

6.5.7 Роботи з лужними металами слід проводити в витяжній шафі на чистому і сухому місці, застосовуючи мінімальні їх кількості і користуючись захисними окулярами і гумовими рукавичками. Щоб уникнути займання лужних металів, не можна допускати попадання на них води.

6.4.8 З пожежонебезпечними реактивами слід працювати далеко від вогню і працюючими нагрівальними приладами.

6.5 Робота з отруйними газоподібними речовинами

6.5.1 Роботу з отруйними газоподібними речовинами проводять обов'язково у витяжній шафі.

6.5.2 Перед роботою необхідно перевірити силу тяги у витяжній шафі.

При поганій або недостатній тязі працювати з отруйними газоподібними речовинами заборонено.

6.5.3 Під час виконання робіт з отруйними газоподібними речовинами необхідно мати наготові протигаз.

## **7. Перша допомога при нещасних випадках в лабораторії**

Про нещасний випадок потерпілий або очевидець зобов'язаний негайно повідомити завідувача лабораторії. Очевидець повинен організувати першу допомогу потерпілому і викликати лікаря.

При роботі в хімічній лабораторії найбільш вірогідні наступні види уражень:

-отруєння,

-поранення,

-опіки,

-втрата свідомості.

7.1 Речовини, що викликають ОТРУЄННЯ і засоби першої допомоги при різних отруєннях представлені в Таблиці 7.1

**Таблиця 7.1 – Перша допомога при отруєннях**

Отруйні речовини	Перша допомога
Альдегіди	Дати випити склянку 0,2% розчину аміаку, а через кілька хвилин – склянку молока.
Аміаку розчин	Давати пити слабкий розчин оцтової кислоти або лимонний сік. Викликати блювоту. Дати рослинне масло, молоко або яєчний білок.
Барію солі	Викликати блювоту. Дати проносне – сірчаноокислий магній або сірчаноокислий натрій.
Бензол	При отруєнні через стравохід викликати блювоту. Дати проносне, зробити штучне дихання і вдихати кисень. Дати кави.
Йод	Викликати блювоту. Дати 1% розчин сірноватистокислого натрію, крохмальний клейстер, молоко. Дати воду. Викликати блювоту. Дати молоко, яєчний білок або крохмальний клейстер.
Мідь і її солі	Промивання шлунка розчином $\text{KMnO}_4$ (1 г на 1 дм <sup>3</sup> води), всередину 1% -вий розчин цієї ж солі по столовій ложці протягом 5 хвилин, сольове проносне. Уникати жирного і кислого.
Мінеральні кислоти	При отруєнні через стравохід полоскати рот водою і 5% розчином двовуглекислого натрію. Дати молоко і суспензію оксиду магнію (10 г оксиду магнію в 150 см <sup>3</sup> води) або вапняну воду і рослинну олію.
Нітросполуки	Викликати блювоту. Дати проносне.

	Абсолютно неприпустимо давати спирт, жири або рослинну олію.
Сполуки олова	Викликати блювоту. Дати суспензія оксиду магнію в воді, рослинна олія.
Піридин	Дати чай або каву у великій кількості. Зробити штучне дихання.
Ртуті сполуки	Дати суміш складу: 1 г фосфорноватокислого натрію, 5 см <sup>3</sup> 3% вого перекису водню і 10 см <sup>3</sup> води, вважаючи, що зазначені кількості беруться на кожні 0,1 г хлорної ртуті, що потрапила в шлунок.
Свинець та його сполуки	Дати велику кількість 10% розчину сірчаноокислого магнію. Тепло на живіт. Клізми (соляна, масляна).
Сполуки срібла	Дати велику кількість 10%- вого розчину кухонної солі.
Спирти, етиловий ефір, снодійне, хлороформ та інші наркотичні речовини	Дати 0,03 г фенаміну або 0,1 г коразола, або 30 крапель кордамін, або 0,5 г бромистий камфори. Після цього дати міцний чай або каву. При необхідності робити штучне дихання і давати вдихати кисень.
Фенол	Викликати блювоту. Дати вапняну воду або суспензія оксиду магнію (15 г оксиду магнію на 100 см <sup>3</sup> води, все слід дати 500 см <sup>3</sup> по одній столовій ложці через кожні 5 хвилин), або розбавлений розчин KMnO <sub>4</sub> (1: 400). У важких випадках дають 5% розчин сірчаноокислого натрію і кисень для вдихання
Сполуки фосфору	При отруєнні через стравохід – постійні промивання шлунка 0,2% розчином KMnO <sub>4</sub> . Далі 2-3 рази кожні півгодини – 1% розчином 30 сірчаноокислої міді (по 0,1 г на прийом). Клізми. Лужне пиття (2% р-м двовуглекислого натрію)

Фтористий натрій	Дати вапняну воду або 2% розчин хлористого кальцію.
Ціанистоводнева (синильна) кислота та її солі	При отруєнні через стравохід дати 1% розчин сірноватистокислого натрію або 0,025% розчин $\text{KMnO}_4$ , що містить двовуглекислий натрій. Викликати блювоту. Негайно дати вдихати з ватою амільнітрит (накапати на ваті 10 крапель). Якщо поліпшення немає, зробити штучне дихання з рясним застосуванням кисню.
Сполуки цинку	Викликати блювоту. Дати сире яйце в молоці.
Щавлева кислота	Викликати блювоту. Дати вапняну воду, касторове масло.
Викликати блювоту. Дати вапняну воду, касторове масло.	Абсолютний спокій. Вдихати кисень. Дати 2 г норсульфазола.
Аміак, ацетон	Чисте повітря, спокій. При втраті свідомості – штучне дихання.
Йодові пари	Вдихати водяні пари з домішкою аміаку, очі Промити 1 % розчином сірноватистокислим натрієм.
Оксиди вуглероду, ацетилен	Свіже повітря. Не допускати охолодження тіла. Якщо дихання слабке або переривчасте, дати кисень. Якщо дихання зупинилося, робити штучне дихання в поєднанні з киснем.
Сірної кислоти пари	Свіже повітря. Інгаляція содовим розчином. Тепле молоко з содою і «Боржомі».
Сірководень	Чисте повітря. У важких випадках штучне дихання, кисень.
Соляної кислоти пари	Свіже повітря. Інгаляція кисень, полоскання горла 2% розчином соди.
Хлор	Спокій навіть при помірному отруєнні, вдихання кисень. При отруєнні через стравохід промити порожнину рота 3%

	розчином двовуглекислого натрію і суспензією оксид магнезії в воді. Дати молоко і суспензію 10 г оксиду магнезії в 150 см <sup>3</sup> води.
--	--

7.2 При пораненнях (порізи) необхідно в першу чергу видалити з рани осколки, зупинити кровотечу, промити рану 2% розчином перманганату калію або спиртом і забинтувати. У разі забруднення рани її слід обробити пероксид водню. При сильній кровотечі з рани на кінцівку необхідно вище рани накласти пов'язку, що давить. Кровотечу з ран на інших частинах тіла зупиняє туге перев'язування рани стерильною марлею. При сильній кровотечі необхідно викликати лікаря.

7.3 Опіки діляться на термічні і хімічні.

7.3.1 Причиною термічних опіків можуть бути дотик незахищеним руками до розпечених або сильно нагрітих предметів лабораторного обладнання, займання легкозаймистих або горючих рідин.

7.3.2 Хімічні опіки виникають від дії на шкіру різних хімічних речовин, головним чином кислот і лугів.

7.3.3 Види опіків і засоби першої допомоги представлені в Таблиці 7.2

**Таблиця 7.2 – Перша допомога при опіках**

Опіки	Перша допомога
<b>ТЕРМІЧНІ</b>	
Першого ступеня (почервоніння)	Обпалені місця присипати двовуглецевим натрієм, крохмалем або тальком. Накласти вату, змочену етиловим спиртом. Повторювати змочування.
Другого ступеня (пухирі)	Обробити 3-5% розчином марганцевокислого калію, соди або 5% розчином таніну. Змочування етиловим спиртом.
Третього ступеня (руйнування тканин)	Покрити рану стерильною пов'язкою,

	терміново викликати лікаря.
<b>ХІМІЧНІ</b>	
Кислотами, Хлороформом	Промити опік великою кількістю води, потім 5% розчином бікарбонату натрію або 2% розчином соди.
Лугами	Промити великою кількістю води, потім 2% розчином оцтової кислоти
Бромом	Швидко змити кількома порціями етилового спирту, змастити уражене місце маззю від опіків.
Опіки ока	Промити очі великою кількістю проточної води. При опіку кислотами промивати 3% розчином бікарбонату натрію, при опіку лугами – 2% розчином Борної кислоти.

#### 7.4. При втрати свідомості:

Укладіть потерпілого на рівну поверхню (на підлогу, лаву, стіл) так, щоб голова була нижче тулуба, а ноги – вище. Це забезпечить приплив крові до голови.

Якщо немає можливості укласти людину, посадіть його на лавку або хоча б на підлогу, нахиливши його голову якнайнижче, щоб плечі торкалися колін.

Забезпечте доступ свіжого повітря (відкрийте вікно, якщо потерпілий знаходиться в приміщенні).

Поверніть голову потерпілого набік, щоб блювотні маси не потрапили в дихальні шляхи.

Звільніть від огягу, яке стискає дихальні шляхи (комір, пояс).

Перевірте пульс. Якщо він відсутній або слабо прощупується, відразу ж викликайте «швидку»!

Дайте потерпілому вдихнути пари нашатирного спирту (для цього потрібно злегка змочити ватний тампон нашатирним спиртом і потримати його на відстані

1-2 см від носа).

Якщо нашатирю немає, окропити на обличчя прохолодною водою або протріть рушником, змоченим у холодній воді.

Якщо, незважаючи на всі вжиті заходи, людина не приходить до тями більше 5 хвилин, викликайте «швидку допомогу»!

### **Перелік використаної літератури:**

1. Особливості дотримання техніки безпеки при роботі в біохімічній та хімічній лабораторіях: навч. посібник для студентів та викладачів вузів / К. В. Александрова, В. М. Швець, М. В. Дячков, Д. А. Васильєв. - Запоріжжя: [ЗДМУ], 2017. – 76 с.